

## ラットの水迷路による空間学習過程と年齢との関連

吉田和典

心理学教室

## The Effects of Chronological Aging on the Spatial Learning in Rats

YOSHIDA, Kazunori

*Behavior Science Laboratory, Department of Morphological and Physiological Science,  
School of Medicine, Faculty of Medical Sciences, University of Fukui*

## Abstract :

It is well known that aging is associated with the specific impairments of learning and memory in various mammals including elderly humans. These age-related memory impairments usually involve spatial cognitive abilities. However few studies have addressed the comparison of the changes in the performance of spatial learning among various age groups. The present study examined the acquisition of spatial learning using the Morris water maze and variously aged rats. 30 rats were reared and were divided into three age groups, that is, 12 month (12A: n=10), 18 month (18A: n=10), and 24 month (24A: n=10) old groups. Also 3-4 month-old rats (young: n=10) were used as controls. All rats were trained to learn the position of a hidden escape platform (place learning) for four trials per day, with an intertrial interval of approximately 10 minutes, for a total of 4 days. The location of the hidden escape platform remained constant and, on each trial, rats swam for 90 seconds or until they found the platform. The starting location varied randomly across the trials. The fifth day was a probe test in which the platform was retracted, and rats swam for 60 seconds. Then the cue learning was tested subsequently in a single session of 4 trials in which rats swam to the visible escape platform that protruded above the surface of the pool, for 90 seconds on each trial. In the 24A group, the escape latency to the platform was significantly prolonged in the place learning but not in the cue learning compared to that in the control group, almost the same as those in the previously reported studies. Also in the present study, a significant positive correlation between the escape latency and the mean swimming time was observed in the young control group. But the 24A group showed a significant negative correlation. In the 12A and 18A groups, these results were obtained, but not significant, as those in the 24A group. In the present study, the percent time staying in quadrant G3 in which the escape platform was located during the place learning task was significantly decreased in all aging groups. These results suggest that the spatial learning deficits begin to appear around 12 months old and gradually go from bad to worse in later stages, and these deficits in the 12A and 18A groups are probably related to the similar background mechanisms to the 24A group or more elderly groups in which the morphological and functional deteriorations are observed in the entorhinal-hippocampal networks.

**Key Words** : aging, spatial learning, water maze, hippocampus, entorhinal cortex, rat

(Received 25 August, 2003 ; accepted 29 October, 2003)

## 序および目的

老化に伴い学習・記憶障害が生じることは、人も含めた多くの哺乳動物で確認されている。特に、空間学習課題で特異的にこれらの障害が現れることが報告されており<sup>(2), (4), (10), (11), (12), (14), (17), (20), (22), (28), (34)</sup>, その背景に海馬や嗅内野の形態学的・機能的変容が示唆されている<sup>(1), (3), (5), (6), (7), (8), (9), (13), (15), (16), (19), (21), (23), (24), (25), (26), (27), (28), (29), (30), (31)</sup>。しかしながら従来の研究報告はほとんどが老化動物と若年動物との比較のみで、これらの学習障害がどの年齢で出現してくるのかについてはほとんど検討されていない。

そこで本研究では、12ヶ月齢、18ヶ月齢及び24ヶ月齢のラットを用い、水迷路による空間学習（場所学習および手がかり学習）の習得過程を若年統制群と比較観察することにより、空間学習成績と年齢との詳細な関係を検討することを目的とした。

## 方 法

被験体は、Wistar 系雄ラットを用い、福井医科大学動物実験施設内の12時間：12時間の明暗条件下（明期は午前8時から午後8時まで）で飼育（購入時は7.5ヶ月齢）し、12ヶ月齢（12A群, n=10）、18ヶ月齢（18A群, n=10）及び24ヶ月齢（24A群, n=10）に達した時点で実験を開始した。実験開始時の体重はそれぞれ480~550 g（12A群）、500~670 g（18A群）、580~680 g（24A群）であった。若年統制群として用いたのは3~4ヶ月齢の同系雄ラット（young 群, n=10）で、この統制群の実験開始時の体重は380~430 gであった。

実験時間は明期の午後2時から6時の間に行った。用いた水迷路はモーリス型水迷路で、直径150cmの水槽内面が黒色に塗ってある円形プールを用いた。水深31cmとし、プールの中央から40cm、周囲から23cmのところ逃避用のプラットホーム（直径12cm、水面下1cm、透明プラスチック製）を1箇所セットした。実験期間中、プラットホームの場所は一定とした。水迷路による空間学習課題の手続きは前回の報告<sup>(35)</sup>と同様に、補助照明下で1試行90秒間、一日4試行で4日間の場所学習の訓練を行った。一日の各試行の出

発点は4カ所で毎日の出発順序はランダムとした。従ってラットは周囲の様々な空間的配置（例えば、実験者や実験装置などの環境刺激）を手がかりにプラットホームの場所を学習することになる。5日目に逃避するためのプラットホーム（ゴール）を取り除き、ゴール付近にどれぐらい滞留するか、即ち場所学習の正確性を確かめる試行（プローベテスト）を1試行行った。この場合1試行60秒間（12A群は30秒間とした）で、出発点はプラットホームの対面とした。6日目にプラットホーム可視条件（水面上1cm）下で手がかり学習課題を90秒間4試行行った。この課題は、ラットの運動能力や視覚能力を確かめるために行った。

各試行時のラットの行動は、行動解析装置（Axis90, ニューロサイエンス社）とCCDカメラを用い、ラットの白色と周囲の黒色の二値化により自動的に解析し、各試行毎のゴールまでの泳いだ軌跡、逃避潜時、平均速度、及びプローベテスト試行時のゴール付近の通過数と滞留時間を求めた。

すべての学習実験終了後、0.1%硫化ナトリウム溶液と8%ホルマリン溶液で脳を灌流固定し脳を摘出した。50 $\mu$ mの凍結連続薄切片を作製し、Timm染色法により海馬歯状回の顆粒細胞軸索（mossy fiber）終末を標識し、その後Neutral Redで対染色を行った。今回は主にラットの各年齢層での空間学習行動を中心に報告する。

## 結 果

### (1) 空間学習時の逃避潜時と年齢との関係

場所学習（place learning）とは空間的な参照記憶（spatial reference memory）を必要とする課題である。即ち、周囲の環境刺激、例えば、実験室にある装置とか実験者などを手がかりに目標とする場所を見つけることである。本実験で使用した水迷路は、このような空間認知能力を評価するのに最も適した装置であると言われている<sup>(22)</sup>。図1に本実験の場所学習訓練時の水泳軌跡代表例を示している。これらの画像はラットの白色を自動的に感知し処理したものである。図から明らかなように、若年統制群（C2, C15）では、5試行目或いは9試行目あたりから、ゴールである逃避プラットホームへほぼ直線的に泳ぐ傾向が観察され、各試

ラットの水迷路による空間学習過程と年齢との関連

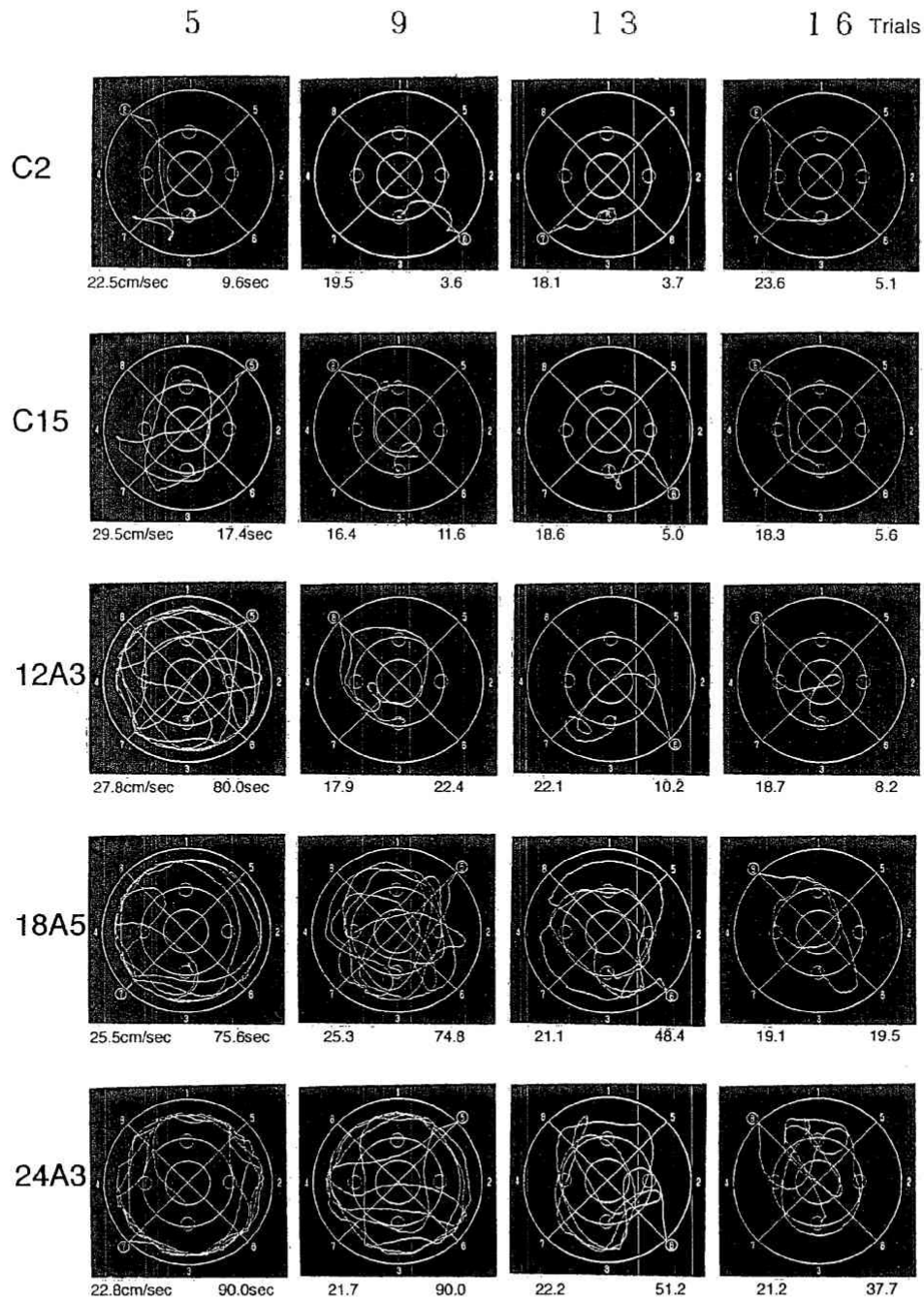


図1 場所学習訓練時の水泳軌跡例

ラットの白色を CCD カメラで自動的に感知し、泳いだ軌跡をコンピュータで処理したもので、5、9、13、16 試行目の水泳軌跡を示している。モーリス水迷路上の丸印の付いている数字（5～8）は各試行での出発点を示す。数字3の個所の小円にゴールのプラットフォームが設置してある。C2、C15 は若年統制群の被験体番号で、12A3、18A5、24A3 はそれぞれ12ヶ月齢群、18ヶ月齢群、24ヶ月齢群の被験体番号を示している。図の左下数字は平均水泳速度、右下は逃避潜時を示している。

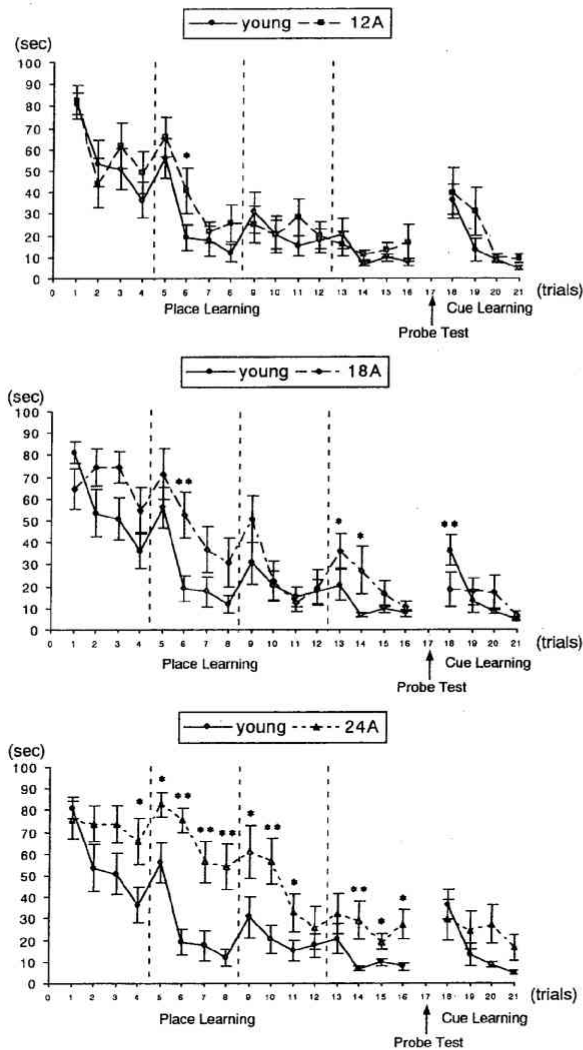


図2 老齢ラットの逃避潜時の各試行毎の変化

16 試行の場所学習 (place learning) 後, プラットホームを取り除くプローベテスト (probe test) を 1 試行 (17 試行目) 行い, その後, プラットホーム可視 (水面から 1 cm 上) 条件で 4 試行手がかり学習 (cue learning) を行った。図の上からそれぞれ 12A 群 (n=10), 18A 群 (n=10), 24A 群 (n=10) の平均逃避潜時と標準誤差を, young 群 (3~4 ヶ月齢, n=10) のものと比較している。点線は 1 日 4 試行の日間を示している。\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$  (Mann-Whitney U test による)

行毎に出発点を変えても正確にゴールに達していることがわかる (5 試行目から 16 試行目の逃避潜時は 9.6~5.1 秒)。それに対して, 24 ヶ月齢群 (24A3) は, 5 試行目や 9 試行目では 1 試行 90 秒以内にはゴールに到達することができなくて, プールを周回する行動パ

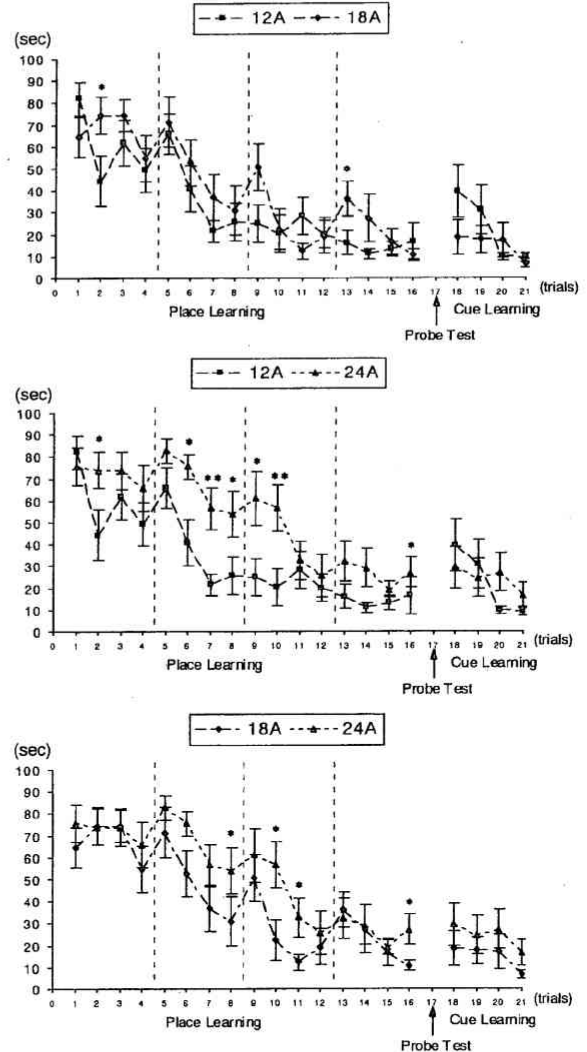


図3 逃避潜時の老齢群間の比較

図の上からそれぞれ, 12A 群と 18A 群間, 12A 群と 24A 群間, 18A 群と 24A 群間の平均逃避潜時と標準誤差を示している。その他の説明は図 2 と同様である。

ターンが多く観察された。最後の 16 試行目でも明らかにプラットホームに達するまでの逃避潜時の遅れが認められた (37.7 秒)。18 ヶ月齢群 (18A5) においては逃避潜時に多少短縮はみられるものの, この例ではその行動パターンは 24A 群とほぼ同様の傾向が認められた。12 ヶ月齢群 (12A3) においては, 18A 群や 24A 群と異なり, 5 試行目以外はやや潜時の遅れは示すもののほぼ統制群と同様の結果を示していた (16 試行目の逃避潜時は 8.2 秒)。

場所学習時の逃避潜時について, すべての老齢群を若年統制 (young) 群と比較すると (図 2), young 群

は6試行目あたりから逃避潜時が短くなり(約20秒前後)、その後徐々に減少し、最終的には10秒以内に逃避していることがわかる。しかし、young群においても2日目以降の第1試行(図2の縦の点線、第5, 第9, 第13試行目)は僅かに逃避潜時が延長しており、記憶保持の一時的抑制が認められた。それに対して、24A群(図2の下段)は第1試行以外のすべての試行で明らかに統制群と比べて逃避潜時が長くなっており、第4から第11試行目及び第14から第16試行目で逃避潜時の有意な延長が観察され(4, 5, 9, 15, 16試行で $p<0.05$ ; 6, 7, 8, 10, 14試行で $p<0.01$ )、顕著な場所学習障害が認められた。18A群(図2の中段)では、逃避潜時に有意差が認められた試行は第6試行目( $p<0.01$ )と第13,14試行目( $p<0.05$ )で、24A群と比較すると逃避潜時の延長の程度は軽度であった。12A群(図2の上段)においては、第6試行目( $p<0.05$ )以外はほぼyoung群と同じ学習パターンを示しており、少なくとも逃避潜時に関しては、12A群は明らかな場所学習障害を示さなかったと言える。次に、老齢群間で逃避潜時を比較してみると(図3)、24A群は12A群との間で有意な逃避潜時の延長を示す試行が多く(2, 6, 8, 9, 16試行で $p<0.05$ ; 7, 10試行で $p<0.01$ )、young群との比較(図2の下段)で見られた傾向とほぼ同じであった。また、18A群と24A群との比較では、有意差が認められたのは8, 10, 11, 16試行目( $p<0.05$ )で、18A群と12A群との間の有意差は2試行目と13試行目( $p<0.05$ )のみで、明らかに老齢化が進むにつれて逃避潜時の延長する試行が増え、場所学習障害が徐々に進行していることが示された。

一方、ゴールであるプラットフォームが見える条件での空間学習(手がかり学習 cue learning)においては、図2及び図3から明らかなように、逃避潜時に対して老齢化の影響は全く観察されなかった。18A群では、むしろ手がかり学習の第1試行でyoung群に比べて逃避潜時が有意に短くなっていた(図2の中段,  $p<0.01$ )。従って、ゴールが視覚的に確認されるような単純な学習習得には老化の影響は無く、少なくともすべての老齢群の視覚能力はyoung群と同じであることが示された。

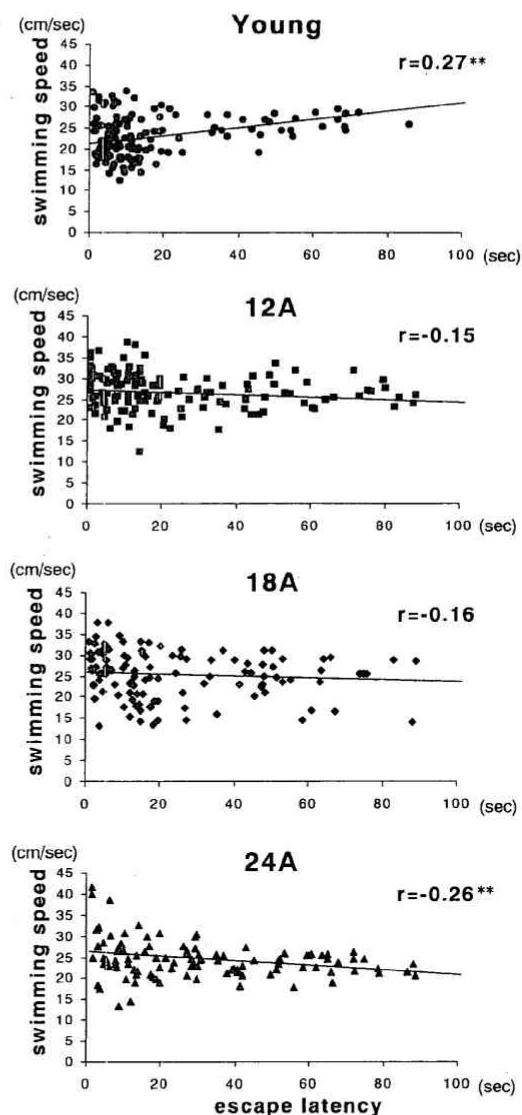


図4 逃避潜時と水泳速度との相関関係

図の上からそれぞれ young 群(3~4ヶ月齢,  $n=10$ ), 12A 群( $n=10$ ), 18A 群( $n=10$ ), 24A 群( $n=10$ )で、場所学習時にゴールに達した試行すべての逃避潜時(横軸)と平均水泳速度(縦軸)をプロットしたものである。 $^{**}$ :  $p<0.01$ (t testによる)

## (2) 逃避潜時と水泳速度の関係

老化に伴い体重が増加し、その結果運動能力が低下し、このような水迷路による場所学習(逃避潜時の延長)に影響したとも考えられる。そこで、運動能力を判定するために、出発点からゴールまでの平均水泳速度を調べたところ、young 群では、学習初期は速く泳ぎ(25~30cm/sec)、学習が進むにつれて遅くなる(20cm/sec前後)傾向が観察された。逆に、24A 群で



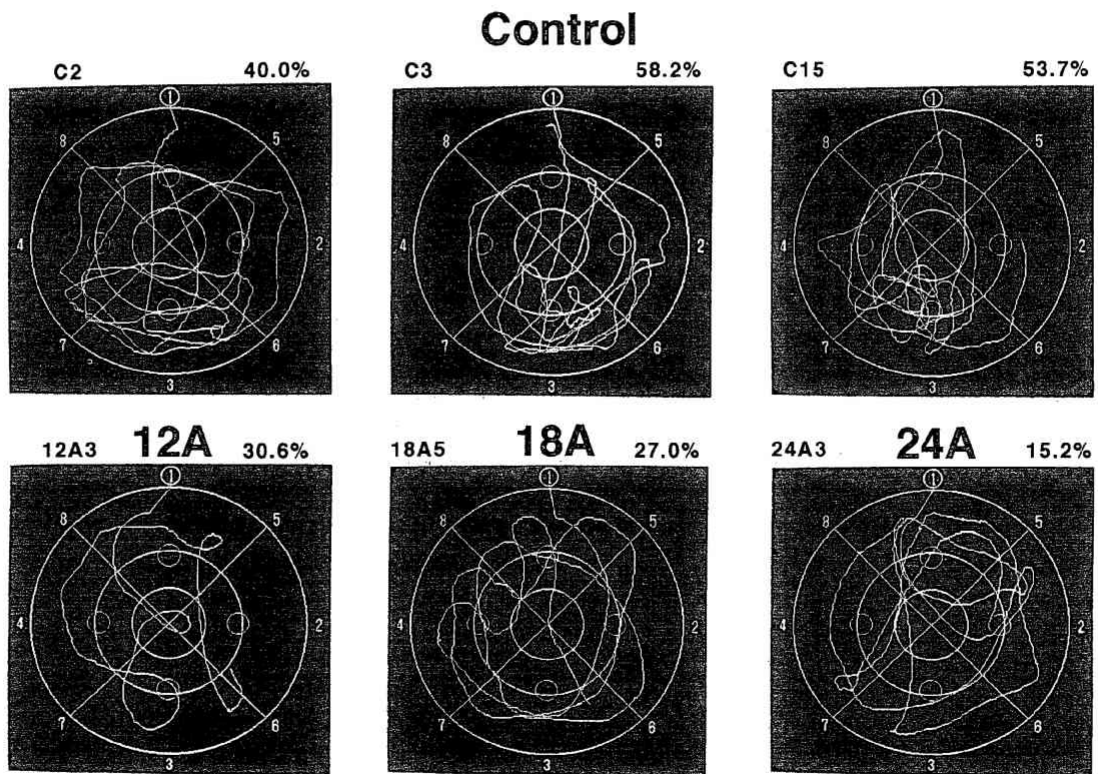


図5 プローベテスト時の水泳軌跡例

1 試行 60 秒間 (12A 群は 30 秒間) での水泳軌跡を示している。この場合の出発点はすべて 1 番 (丸印) とした。図の上段は若年統制群 (Control) で C2, C3, C15 はそれぞれ被験体番号を示している。下段は左からそれぞれ 12 ヶ月齢 (12A) 群, 18 ヶ月齢 (18A) 群, 24 か月齢 (24A) 群で 12A3, 18A5, 24A3 はそれぞれの群の被験体番号を示している。図右上の数字は第 3 番目の 4 分割領域 (プラットホームのあった場所) での滞留時間の割合を示している。

は、学習初期はむしろ水泳速度が遅く (20cm/sec 前後)、学習後半に速くなる (25cm/sec 前後) 傾向が見られた。18A 群や 12A 群では学習過程全般にわたってほぼ同じ速度 (25cm/sec 前後) で泳ぐ傾向が観察された。これらの結果は、老齢群でも泳ぐ運動能力そのものは young 群とほとんど変わらないことを示している。

図 4 は、プラットホームに到達できたすべての試行での逃避潜時とその時の平均水泳速度との相関関係を示している。young 群では、逃避潜時と平均水泳速度との間に有意な正の相関が認められた ( $r=0.27$ ,  $p<0.01$ )。即ち、前述の通り、逃避潜時の長い学習初期は速く泳ぐが、学習が進むにつれて遅く泳ぐようになるということである。それに対して、24A 群では、有意な負の相関 ( $r=-0.26$ ,  $p<0.01$ ) が認められた。

また、12A 群や 18A 群においても、有意ではないが負の相関傾向 (それぞれ  $r=-0.15$ ,  $r=-0.16$ ) が認められ、young 群と老齢群では場所学習の習得過程に相違があることが示された。

### (3) プローベテスト

プローベテストは、場所学習を習得したかどうかを確認する最も良い方法とされている<sup>(14)</sup>。これは、場所学習訓練時にゴールであったプラットホームを取り除いた状態で自由に泳がせ、本来プラットホームがあった場所 (4 分割領域) を泳いでいる時間を調べるテストである。図 5 はプローベテスト時の水泳軌跡の代表例を示している。この場合のプラットホームは 3 番目の小円に設置してあった。この 4 分割領域 (扇型の

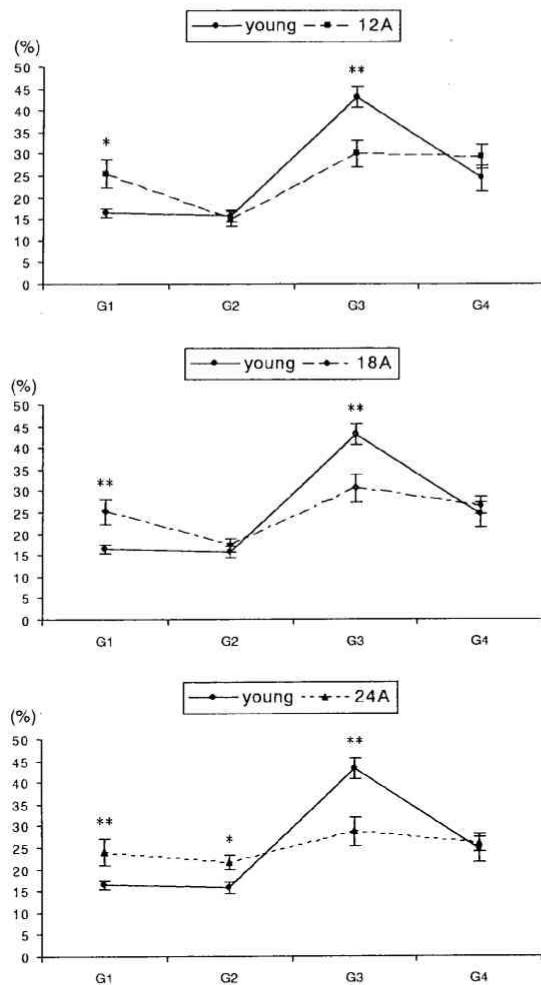


図6 老齢ラット群のブローベテスト時の4分割領域での滞留時間

図の上からそれぞれ 12A 群 (n=10), 18A 群 (n=10), 24A 群 (n=10) の平均滞留時間比率 (%) と標準誤差を, young 群 (3~4 ヶ月齢, n=10) のものと比較している。G1~G4 はそれぞれ図 6 に示した 1~4 での 4 分割領域にあたる。G3 が場所学習時にプラットホームのあった領域である。1 試行 60 秒間 (12A 群は 30 秒間) でのそれぞれの 4 分割領域に滞留した割合を示している。

領域) を G3 とし, それ以外の領域をそれぞれ G1, G2, G4 とした。young 群 (Control) の 3 例 (図の上段の C2, C3, C15) について見てみると, G3 の 4 分割領域を泳いでいた時間 (滞留時間) の比率は 40~58.2% で, 出発点からほぼ直線的に G3 に向かい, G3 のプラットホームがあった場所 (3 番目の小円) を横切る回数も

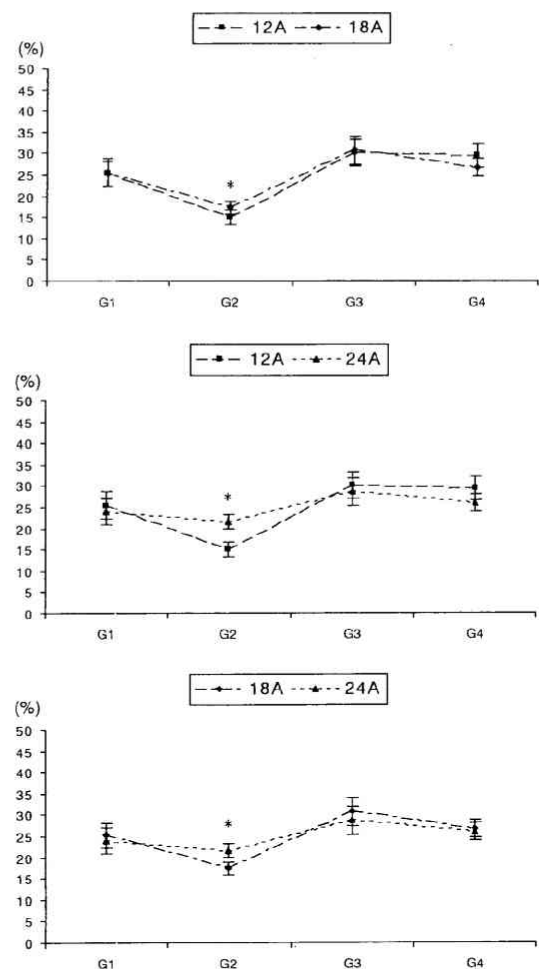


図7 4分割領域滞留時間の老齢群間の比較

図の上からそれぞれ, 12A 群と 18A 群間, 12A 群と 24A 群間, 18A 群と 24A 群間の平均滞留時間比率と標準誤差を示している。その他の説明は図 6 と同様である。

多い傾向が認められた (特に C3 と C15)。それに対して, 老齢群の G3 での滞留時間の比率は, 12A 群 (12A3) で 30.6%, 18A 群 (18A5) で 27% に減少し, 24A 群 (24A3) では 15.2% と, チャンスレベル (25%) 以下にまで減少した。しかも, G3 のプラットホームがあった場所 (3 番目の小円) を横切る回数もほとんど無く, プラットホームのあった場所を正確に記憶していなかったことが予想された。そこで, すべての老齢群の滞留時間を young 群と比較したところ (図 6), 12A 群, 18A 群, 24A 群共に G3 の滞留時間の割合が young 群と比べて有意に減少し (Mann-Whitney U test,  $p < 0.01$ ), その

代わりに G1 での滞留時間の割合が有意に増加していた (12A 群は  $p<0.05$ , 18A 群と 24A 群は  $p<0.01$ )。さらに, 24A 群では G2 領域の割合も有意に増加しており ( $p<0.05$ ), 4 分割領域すべてがほぼ 25%前後のチャンスレベルの値を示していた。即ち, 4つの領域を均等に泳いでいたことが推定された。老齢群間を相互に比較してみると (図 7), G2 領域での滞留時間比率においては, すべての老齢群間で有意差が認められた ( $p<0.05$ ) が, プラットホームのあった G3 領域での滞留時間比率は老齢 3 群間で有意差が認められなかった。従って, 12A 群や 18A 群も 24A 群と同様に, 場所学習障害が生じていたことが判明した。

## 考 察

老齢化により学習・記憶障害が現れることは昔からよく知られている。特に, 空間認知を必要とする記憶課題が特異的に悪くなると言われている (2), (4), (10), (11), (12), (14), (17), (20), (22), (28), (34)。しかしながら, 従来の研究のほとんどは老齢群 (ラットの場合, 22 ヶ月から 28 ヶ月齢) と若年統制群 (ラットの場合, 2 ヶ月から 4 ヶ月齢) との比較のみで, このような空間学習障害がいつ頃から出現し始めるかについては不明であった。そこで, 本研究では, 老齢ラット (24 ヶ月齢, 24A) に加えて 12 ヶ月齢 (12A) と 18 ヶ月齢 (18A) の成熟ラットを用い, 3~4 ヶ月齢の若年統制群 (young) の空間学習成績と比較検討した。本実験で得られた結果をまとめると, 24A 群で顕著な場所学習障害が確認され, 従来の研究報告 (2), (4), (12), (14), (17), (22), (28), (34) と一致する結果が得られた。確かに, 24A 群においても, 訓練が進むにつれて徐々に成績が良くなる (逃避潜時の短縮) 傾向は見られたが, 学習行動パターンが young 群とは異なっていることが示唆された。つまり, 平均水泳速度と逃避潜時の相関関係を調べたところ, young 群は逃避潜時の長い学習初期には水泳速度が速く, 学習が進むにつれて遅く泳ぐようになることが観察された。これは, 最初は, 水などの嫌悪刺激からできるだけ速く逃れたいと言う動機づけが水泳速度を速め, 逃避場所を学習するにしたがって学習環境事態を把握し, 落ち着いて行動した結果と考えられる。それに対して, 24A 群では逆に, 学習初期には遅く泳ぎ,

学習後期に速く泳ぐようになることが判明した。これはおそらく, 水などの嫌悪刺激に対する反応性の低下や学習環境状況の理解度の低下などが考えられる (28)。これらの傾向は, 本実験で用いた 12A 群や 18A 群においても同じように観察された (これらの群は, 従来は成熟統制群 (adult control) としてよく用いられていた (2), (32))。即ち, 12A 群や 18A 群でも場所学習時に逃避潜時が有意に遅れる試行が見られ, 水泳速度と逃避潜時との間にも有意ではないが, 24A 群と同様の負の相関傾向が認められた。さらに, 場所学習の度合いを測定するのに最も適した方法と言われている (14) プローベテストにおいても, 12A 群, 18A 群共に 24A 群と同様に, 場所記憶の正確性が欠如していたことが明らかとなった。従って, 老化に伴う空間学習障害, 特に, 場所学習障害は 12 ヶ月齢前後からすでに始まっていることが本実験で示された。

これらの老化による空間学習障害が海馬破壊効果と同じであることが示されており (22), (28), 以前から, 海馬や嗅内野など大脳辺縁系の形態学的ないしは機能的変容がこれらの障害の背景にあることが指摘されている (1), (3), (5), (6), (7), (8), (9), (13), (15), (16), (18), (19), (21), (23), (24), (25), (26), (27), (28), (29), (30), (31)。つまり, 老化により脳内, 特に, 海馬の NMDA 受容体の一部が減少し (1), このことが NMDA 受容体を介した長期増強 (LTP: long term potentiation) を弱め (28), その結果, 空間学習成績が悪くなると言われている (1)。また, 老化により海馬のコリン作動性及びセロトニン作動性ニューロンの機能的変容も報告されている (5), (6)。一方, 老化による脳内の形態学的変容に関しては, 人でのアルツハイマー病で見られる症状ほど重篤ではないが, 一般的に, 嗅内野—海馬ニューロン数の減少 (23), (24) や, 嗅内野から海馬 CA1 及び歯状回へのシナプス数の減少 (15), (16), (31) などが言われている。さらに, 嗅内野の GABA 作動性ニューロンの減少 (21) や, 嗅内野での  $\beta$  アミロイドの蓄積 (7) なども報告されている。しかしながら, これらのデータはほとんどすべて老齢動物 (24~28 ヶ月齢以上) に基づいたもので, 本実験で得られた 12A 群や 18A 群の海馬や嗅内野の変容過程は明らかとなっていない。但し, Papatheodoropoulos と Kostopoulos (25) は, ラットの海馬 CA1 錐体細胞の興奮性が 7~10 ヶ月齢頃から減少し始めていることを指摘している。従って, 今回の実



験群（12A 群と 18A 群）においても従来から言われているような、嗅内野－海馬系のシナプス結合異常や様々な形態学的変容が 12 ヶ月齢前後から生じ始めており、そのことが海馬の興奮性など機能的側面を弱め、その結果、12A 群と 18A 群の空間学習、特に、場所学習で障害が認められた理由と考えられる。そこで今後は、これらの群の機能的及び形態学的検索を、嗅内野－海馬系を中心に詳細に行う必要がある。

## 要 約

本研究は、ラットの老化に伴う水迷路による空間学習障害について、年齢との関連を詳細に検討した。その結果、24 ヶ月齢（24A）群の場所学習訓練時において有意な逃避潜時の遅れを示し、ほぼ従来の研究報告と一致した結果が得られた。本研究においては、18 ヶ月齢（18A）群や 12 ヶ月齢（12A）群においても場所学習訓練時に若年統制（young）群と比較して数試行で有意な逃避潜時の遅れを示した。また、young 群では、平均水泳速度と逃避潜時との間には有意な正の相関が認められた。即ち、学習成績が良くなるにつれて泳ぐ速度が遅くなる傾向が観察された。それに対して、24A 群では有意な負の相関関係となっており、12A 群や 18A 群においても、有意ではないが負の相関傾向が認められた。さらに、ブローベテストにおいて、プラットホーム（ゴール）のあった 4 分割領域での滞留時間比率がすべての老齢群で有意に減少しており、12A 群ですでに場所学習の正確性が欠如していたことが明らかとなった。一方、手がかり学習課題では、すべての老齢群で顕著な学習障害は認められなかった。従って、老化に伴い特異的に生じる場所学習障害は 12 ヶ月齢頃から徐々に始まっていることが示され、その背景となる脳内（特に海馬）の形態学的及び機能的変容もこの時期に同時に出現している可能性が示唆された。

本研究は、平成 13・14・15 年度科学研究費補助金（基盤研究 C(2)、課題番号：13610080）の援助を受けて行ったものである。

## 参 考 文 献

- (1) Adams, M.M., Smith, T.D., Moga, D., Gallagher, M., Wang, Y., Wolfe, B.B., Rapp, P.R. & Morrison, J.H. Hippocampal dependent learning ability correlates with NMDA receptor levels in CA3 neurons of young and aged rats. *J. Comp. Neurol.*, 2001, 432, 230-243.
- (2) Barnes, C.A. Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 1979, 93(1), 74-104.
- (3) Barnes, C.A., Meltzer, J., Houston, F., Orr, G., McGann, K. & Wenk, G.L. Chronic treatment of old rats with donepezil or galantamine: effects on memory, hippocampal plasticity and nicotinic receptors. *Neurosci.*, 2000, 99(1), 17-23.
- (4) Barnes, C.A., Suster, M.S., Shen, J. & McNaughton, B.L. Multistability of cognitive maps in the hippocampus of old rats. *Nature*, 1997, 388, 272-275.
- (5) Birtelmer, A., Stemmelin, J., Jackisch, R. & Cassel, J.-C. Presynaptic modulation of acetylcholine, noradrenaline, and serotonin release in the hippocampus of aged rats with various levels of memory impairments. *Brain Res. Bull.*, 2003, 60, 283-296.
- (6) Buhot, M.-C., Wolff, M., Savova, M., Malleret, G., Hen, R. & Segu, L. Protective effect of 5-HT1B receptor gene deletion on the age-related decline in spatial learning ability in mice. *Behav. Brain Res.*, 2003, 142, 135-142.
- (7) Cummings, B.J., Head, E., Afagh, A.J., Milgram, N.W. & Cotman, C.W.  $\beta$ -amyloid accumulation correlates with cognitive dysfunction in the aged canine. *Neurobiol. Learning Memory*, 1996, 66, 11-23.
- (8) Doanond, M.C., Johnson, R.E., Mizono, G., Stanley, Ip., Lee, C.L. & Wells, M. Effects of aging and environment on the pyriform cortex, the occipital cortex, and the hippocampus. *Behav. Biol.*, 1977, 20, 325-336.
- (9) Farr, S.A., Banks, W.A., Uezu, K., Sano, A., Gaskin, F.S. & Morley, J.E. Antibody to  $\beta$ -amyloid protein increases acetylcholine in the hippocampus of 12 month SAMP8 male mice. *Life Sci.*, 2003, 73, 555-562.
- (10) Frick, K.M. & Fernandez, S.M. Enrichment enhances spatial memory and increases synaptophysin levels in aged female mice. *Neurobiol. Aging*, 2003, 24, 615-626.

- (11)Frick, K.M., Stearns, N.A., Pan, J.Y., & Berger-Sweeney, J.  
Effects of environmental enrichment on spatial memory and neurochemistry in middle-aged mice. *Lern. Mem.*, 2003, 10, 187-198.
- (12)Fukui, K., Onodera, K., Shinkai, T., Suzuki, S. & Urano, S.  
Impairment of learning and memory in rats caused by oxidative stress and aging, and changes in antioxidative defence systems. *Ann.N.Y.Acad.Sci.*, 2001, 928, 168-175.
- (13)Gage, F.H. & Bjorklund, A. Cholinergic septal grafts into the hippocampal formation improve spatial learning and memory in aged rats by an atropine-sensitive mechanism. *J.Neurosci.*, 1986, 6(10), 2837-2847.
- (14)Gallagher, M., Burwell, R. & Burchinal, M. Severity of spatial learning impairment in aging: development of a learning index for performance in the Morris water maze. *Behav.Neurosci.*, 1993, 107(4), 618-626.
- (15)Geinisman, Y., de Toledo-Morrell, L., & Morrell, F. Loss of perforated synapses in the dentate gyrus: morphological substrate of memory deficit in aged rats. *Proc.Natl.Acad.Sci.*, 1986, 83, 3027-3031.
- (16)Geinisman, Y., de Toledo-Morrell, L., & Morrell, F. Aged rats need preserved complement of perforated axospinous synapses per hippocampal neuron to maintain good spatial memory. *Brain Res.*, 1986, 398, 266-275.
- (17)Gibbs, R.B. Long-term treatment with estrogen and progesterone enhances acquisition of a spatial memory task by ovariectomized aged rats. *Neurobiol. Aging*, 2000, 21, 107-116.
- (18)Krzywkowski, P., Lagny-Pourmir, I., Jazat, F., Lamour, Y. & Epelbaum, J. The age-related increase in galanin binding sites in the rat brain correlates with behavioral impairment. *Neurosci.*, 1994, 59(3), 599-607.
- (19)Landfield, P.W., McGaugh, J.L. & Lynch, G. Impaired synaptic potentiation processes in the hippocampus of aged, memory-deficient rats. *Brain Res.*, 1978, 150, 85-101.
- (20)Meaney, M.J., Aitken, D.H., Berkel, C.v., Bhatnagar, S. & Sapolsky, R.M. Effect of neonatal handling on age-related impairments associated with the hippocampus. *Science*, 1988, 239, 766-769.
- (21)Miettinen, R., Sirvio, J., Riekkinen, P. Sr, Laakso, M.P., Riekkinen, M. & Riekkinen, P.Jr, Neocortical, hippocampal and septal parvalbumin- and somatostatin- containing neurons in young and aged rats: correlation with passive avoidance and water maze performance. *Neurosci.*, 1993, 53(2), 367-378.
- (22)Morris, R.G.M., Garrud, P., Rawlins, J.N.P. & O'Keefe, J. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*, 1982, 297, 681-683.
- (23)Morrison, J.H. & Patrick, R.H. Life and death of neurons in the aging brain. *Science*, 1997, 278, 412-419.
- (24)Morys, J., Sadowski, M., Barcikowska, M., Maciejewska, B. & Narkiewicz, O. The second layer neurones of the entorhinal cortex and the perforant path in physiological ageing and Alzheimer's disease. *Acta.Neurobiol.Exp.*, 1994, 54, 47-53.
- (25)Papatheodoropoulos, C. Kostopoulos, G. Age-related changes in excitability and recurrent inhibition in the rat CA1 hippocampal region. *Eur.J.Neurosci.*, 1996, 8, 510-520.
- (26)Rapp, P.R. & Gallagher, M. Preserved neuron number in the hippocampus of aged rats with spatial learning deficits. *Proc. Natl.Acad.Sci.*, 1996, 93, 9926-9930.
- (27)Rapp, P.R., Stack, E.C. & Gallagher, M. Morphometric studies of the aged hippocampus: I. volumetric analysis in behaviorally characterized rats. *J.Comp.Neurol.*, 1999, 403, 459-470.
- (28)Rosenzweig, E.S. & Barnes, C.A. Impact of aging on hippocampal function: plasticity, network dynamics, and cognition. *Prog.Neurobiol.*, 2003, 69, 143-179.
- (29)Schibler, A.B. The hippocampus: organizational patterns in health and senescence. *Mech. Aging Dev.*, 1979, 9, 89-102.
- (30)Shahlaie, K., Kargozaran, H. & Horowitz, J.M. Age-related changes in potentiation of evoked responses in CA1 pyramidal cells from the hamster hippocampus. *Neurosci.Lett.*, 2001, 297, 85-88.
- (31)Smith, T.D., Adams, M.M., Gallagher, M., Morrison, J.H. & Rapp, P.R. Circuit-specific alterations in hippocampal synaptophysin immunoreactivity predict spatial learning impairment in aged rats. *J.Neurosci.*, 2000, 20(17), 6587-6593.
- (32)Ward, M.T., Oler, J.A. & Markas, E.J. Hippocampal dysfunction during aging I: deficits in memory consolidation. *Neurobiol.Aging*, 1999, 20, 363-372.

- (33)Ward, M.T., Stoelzel, C.R. & Markas, E.J. Hippocampal dysfunction during aging II: deficits on the radial-arm maze. *Neurobiol.Aging*, 1999, 20, 373-380.
- (34)Ye, J.-W., Shang, Y.-Z., Wang, Z.-M. & Tang, X.-C. Huperzine A ameliorates the impaired memory of aged rat in the Morris water maze performance. *Acta Pharmacol.Sin.*, 2000, 21(1), 65-69.
- (35)吉田和典, 抗コリン作動薬長期投与後のラット空間学習の成立過程と海馬内の形態学的変容との関連, 福井医科大学研究雑誌, 2002, 3(1/2), 7-16.